

不同产地‘凤丹’牡丹籽油主要脂肪酸成分分析

韩雪源, 张延龙*, 牛立新, 罗建让
(西北农林科技大学林学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要: 开展我国不同产地牡丹种子的脂肪酸成分评价, 对于筛选油用牡丹最佳种植地和研究其道地性具有重要意义。对7个产地的牡丹品种‘凤丹’的籽油进行提取, 使用气相色谱-质谱法分析其脂肪酸成分, 并采用内标法对其主要脂肪酸进行定量分析。结果表明: 牡丹籽油中含有丰富的不饱和脂肪酸, 依次为亚麻酸、亚油酸和油酸。不同产地‘凤丹’籽的籽油中主要脂肪酸的总含量差异显著, 主要脂肪酸总含量为77.33~97.38 g/100 g粗提油, 彬县‘凤丹’籽油中主要脂肪酸的总含量最高; 不同产地的‘凤丹’籽油中单体脂肪酸的含量差异显著, 彬县和凤县‘凤丹’籽油中亚麻酸含量分别为38.25 g/100 g和37.50 g/100 g粗提油, 显著高于铜陵等地区; 而旬阳‘凤丹’籽油中亚油酸的含量(30.62 g/100 g粗提油)显著高于其他地区。主要脂肪酸含量相关性分析表明, 亚油酸含量与其他脂肪酸含量呈负相关, 亚麻酸、油酸含量与总脂肪酸含量呈显著相关性。因此, 在今后牡丹籽油的生产方面, 要综合考虑不同地区之间的油品质差异性。

关键词: 牡丹籽油; 内标法; 脂肪酸; 定量分析

Fatty Acid Composition of ‘Fengdan’ Peony Seed Oils from Different Growing Regions

HAN Xue-yuan, ZHANG Yan-long*, NIU Li-xin, LUO Jian-rang
(College of Forestry, Northwest A & F University, Yangling 712100, China)

Abstract: The fatty acid composition of peony seed oils from different regions was analyzed and evaluated, which would be of great significance for the selection of the most appropriate cultivated field and geoherbism study for peony seed oil production. Supercritical CO₂ extraction was applied to extract peony seed oil from the ‘Fengdan’ cultivar (*Paeonia ostii*) from seven regions. The fatty acid composition was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and quantified with an internal standard method. The results revealed that peony seed oil was rich in unsaturated fatty acids, including linolenic acid, linoleic acid and oleic acid. There were significant differences in the total content of fatty acids among peony seed oils from different regions, ranging from 77.33 to 97.38 g/100 g crude oil. Peony seed oil from Binxian county of Northwest China’s Shaanxi province showed the highest total fatty acid content. Meanwhile, obvious differences in the individual contents of fatty acids existed across different regions. The linolenic acid content of peony seed oils from Binxian and Fengxian, another county of Shaanxi province (38.25 and 37.50 g/100 g crude oil, respectively) was higher than that from Tongling region of South China’s Anhui province, and the linoleic acid content of peony seed oil from Xunyang county of Shaanxi province (30.62 g/100 g crude oil) was also distinctly higher than that of other producing areas. Correlation analysis indicated the content of linoleic acid was negatively correlated to other fatty acids. In addition, a significant correlation was observed between the total content of fatty acids and the contents of linolenic acid and oleic acid. In conclusion, we should consider the difference of oil quality among different regions in regard of the production of peony seed oil.

Key words: peony seed oil; internal standard method; fatty acids; quantitative analysis

中图分类号: TS222.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2014)22-0181-04

doi:10.7506/spkx1002-6630-201422034

牡丹 (*Paeonia suffruticosa* Andr.) 别名木芍药, 为芍药科 (*Paeoniaeaceae*) 芍药属 (*Paeonia*) 牡丹组 (*Sect. Moutan* DC.) 落叶灌木, 是我国特有的植物资源, 世

界各地广为种植的牡丹都起源于中国^[1-3], 中国是其栽培及遗传多样性的中心^[4]。‘凤丹’ (*Paeonia ostii* ‘Feng Dan’) 是牡丹野生种杨山牡丹的栽培品种, 主要

收稿日期: 2014-02-25

基金项目: 国家林业局林业公益性行业科研专项 (201404701); 西北农林科技大学博士科研启动基金项目 (2013BSJJ051)

作者简介: 韩雪源 (1992—), 女, 硕士研究生, 研究方向为园林植物种植资源与育种。E-mail: 15009256461@163.com

*通信作者: 张延龙 (1964—), 女, 教授, 博士, 研究方向为园林植物资源与育种。E-mail: zhangyanlong@nwsuaf.edu.cn

应用于牡丹皮和籽油的生产,是一种很好的药食兼备植物。

目前,开发木本食用油已成为各国解决食用油紧缺的主要渠道和趋势,西欧部分国家基本实现了食用油木本化,而我国近年食用植物油供需形势日益严峻,自给率只有40%左右^[5]。牡丹籽油作为一种新型木本植物油,具有抗肿瘤、抗炎、改善心血管和调节免疫等医疗保健功能^[6-9]。而2011年3月22日,卫生部发布了“关于批准元宝枫籽油和牡丹籽油作为新资源食品的公告”,这标志着牡丹籽油正式成为我国的一种木本食用油。关于牡丹籽油成分的研究表明,其籽油中大约有17种脂肪酸成分,主要为亚麻酸、油酸、亚油酸等不饱和脂肪酸,约占83.05%,另外还有部分饱和脂肪酸约占14.33%^[10]。而对不同产地的牡丹籽油成分是否具有差异性及其是否具有地道性的研究鲜有报道。

本研究对7个产地的牡丹栽培品种‘凤丹’籽油的脂肪酸成分进行测定,采用内标法对籽油中的各脂肪酸含量进行定量分析,以期为油用牡丹品种栽培区划提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

实验所用牡丹栽培品种‘凤丹’的种子分别采自安徽铜陵、陕西凤县、陕西旬阳、陕西彬县、陕西旬邑、河南洛阳和山东聊城,以上种子均为2013年8~9月采收的成熟种子。种子在60℃烘干48h至恒质量,脱皮后,粉碎过40目筛,装入塑封袋中低温保存,供提取测试。

脂肪酸甲酯混合标品(批号LB98898) 美国Supelco公司;十三酸甲酯标准品(批号22737) 美国AccuStandard公司;质量分数14%三氟化硼-甲醇溶液上海安谱科学仪器有限公司;二氯甲烷、甲醇(均为色谱纯) 天津市科密化学试剂有限公司;氢氧化钠、氯化钠(均为分析纯) 四川西陇化工厂有限公司。

1.2 仪器与设备

SFE-2型超临界萃取仪 美国应用分离公司;ISQ气相色谱-质谱联用仪 美国Thermo Fisher Science公司。

1.3 方法

1.3.1 标准溶液的配制

内标溶液的配制:将100mg十三烷酸甲酯标准品溶于10mL二氯甲烷中,配成质量浓度为10mg/mL的标准液,待用。外标溶液的配制:将1mL的10mg/L脂肪酸混合标准品溶于3mL二氯甲烷,稀释成质量浓度2.5mg/mL的溶液。分别取上述溶液100、200、300、400、500μL,用0.05mg/mL的内标溶液定容至500μL。得到质量浓度梯度为0.5、1.0、1.5、2.0、2.5mg/mL的标准溶液。

1.3.2 牡丹籽油的提取

采用超临界CO₂法提取牡丹籽油,参照邓瑞雪等^[11]的方法。称取牡丹籽10g,放入萃取釜内,开启CO₂气瓶,用高压泵对系统加压,设置压力30MPa、萃取温度45℃、萃取时间2h、CO₂流量25kg/h。收集分离釜中淡黄色半透明油状萃取物,无水硫酸钠过夜干燥,得淡黄色油状物,低温保存,待测。

1.3.3 脂肪酸成分测定

甲酯化反应采用三氟化硼-甲醇溶剂法。取均匀油样0.2g于20mL具塞试管中,再加4mL氢氧化钠-甲醇溶液(0.5mol/L)摇匀;60℃水浴加热至油珠完全溶解(约30min),冷却后加入质量分数14%三氟化硼-甲醇溶液2mL,60℃水浴酯化10min,冷却后加入2mL正己烷,摇匀,再加入2mL饱和氯化钠溶液摇匀,过无水硫酸钠干燥,静置,得到2mL的待测样,取上层溶液500μL,加入内标液150μL,过滤后进行气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)分析。

GC条件:色谱柱:HP-INNOWAX(60m×0.25mm,0.25μm)弹性石英毛细管柱;载气:高纯氦气(99.999%);进样口温度:250℃;升温程序:80℃保持2.5min,以15℃/min的速率升至210℃,再以2℃/min的速率升至230℃,停留10min;进样量:1μL;进样方式:20:1分流进样;柱流量:1.0mL/min;GC-MS接口温度:250℃。

MS条件:电子电离源;离子源温度230℃;传输线温度230℃;电离电压70eV;质量扫描范围m/z 40~460。

1.4 数据处理

相同提取条件下,每个样品重复3次,实验结果取其平均值,采用SPSS 18.0对其做单因素方差分析和相关性分析。

2 结果与分析

2.1 主要脂肪酸的定性分析

按1.3.3节中的色谱条件,经过GC-MS分析得到总离子流图(图1)。比较脂肪酸甲酯混合标准品与样品的色谱峰保留时间,根据各相关色谱峰的离子质量,并检索NIST 2011谱库,确定籽油中脂肪酸的种类。其主要脂肪酸分别为棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸和亚麻酸,分子式分别为C₁₇H₃₄O₂、C₁₉H₃₈O₂、C₁₉H₃₆O₂、C₁₉H₃₄O₂、C₁₉H₃₂O₂,相对匹配度均在925以上,相应甲酯化产物出峰时间分别为17.73、21.20、21.76、22.87min和24.59min,内标物(C₁₄H₂₈O₂)出峰时间为14.12min。

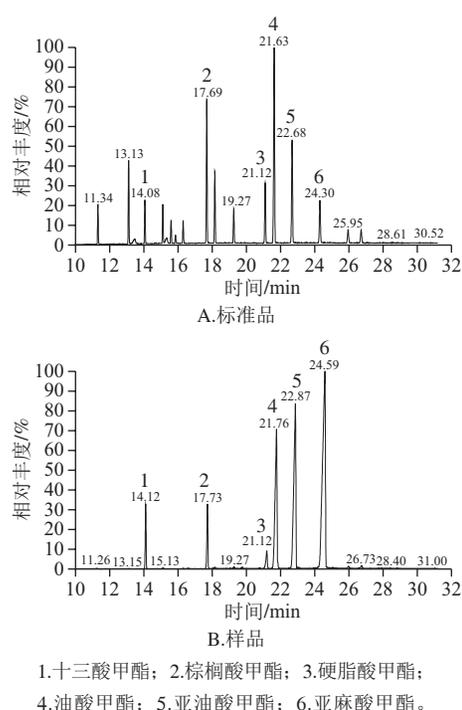


图1 脂肪酸甲酯的总离子流图

Fig.1 Total ion chromatograms of fatty acid methyl ester standards

2.2 标准曲线与检出限

根据不同质量浓度混合标准品的总离子流图,以标准品与内标物的质量浓度比为横坐标(x),相对应的标准品与内标物峰面积比为纵坐标(y),进行线性回归,并根据信噪比($R_{SN}=3$),计算最低检测质量浓度为检出限,结果见表1。结果表明,相关系数均在0.99以上,说明在测定质量浓度范围内,总离子流色谱峰面积与质量浓度成良好的线性关系。

表1 标准曲线与检出限

Table 1 Standard curves and detection limits

名称	线性范围/(mg/mL)	标准曲线	相关系数	检出限/(mg/L)
棕榈酸甲酯	0.065~0.080	$y=0.850 5x-0.033 6$	0.996 5	10
硬脂酸甲酯	0.032 5~0.162 5	$y=0.783 9x-0.034 3$	0.993 0	6
油酸甲酯	0.098~0.490	$y=0.811 0x+0.251 4$	0.994 9	15
亚油酸甲酯	0.065~0.325	$y=0.641 6x+0.043 3$	0.995 6	6
亚麻酸甲酯	0.032~0.16	$y=0.454 7x+0.171 3$	0.996 8	6

2.3 不同地区‘凤丹’籽油主要脂肪酸的定量分析

表2 主要脂肪酸的定量结果(粗提油)

Table 2 Quantitative analysis of main fatty acids (crude oil)

品种	棕榈酸	硬脂酸	油酸	亚油酸	亚麻酸	合计
铜陵‘凤丹’	4.94±0.24 ^d	1.41±0.08 ^b	15.40±1.33 ^b	24.82±1.36 ^b	30.76±2.75 ^b	77.33±1.09 ^a
凤县‘凤丹’	7.32±0.34 ^b	1.68±0.01 ^b	16.80±1.89 ^a	22.77±2.24 ^b	37.50±2.55 ^a	86.07±1.35 ^{bc}
旬阳‘凤丹’	6.09±0.42 ^{bcd}	1.52±0.21 ^b	14.47±0.97 ^b	30.62±2.21 ^a	34.79±1.24 ^a	87.49±1.44 ^b
彬县‘凤丹’	17.12±1.40 ^a	2.12±0.34 ^a	17.86±1.25 ^a	22.75±1.37 ^b	38.25±1.64 ^a	97.38±1.31 ^a
旬邑‘凤丹’	7.22±0.52 ^b	1.46±0.06 ^b	15.21±1.18 ^b	23.46±1.14 ^b	31.56±1.88 ^b	78.91±0.97 ^{bc}
洛阳‘凤丹’	6.41±0.25 ^{bc}	1.53±0.16 ^b	18.42±1.24 ^a	25.09±3.10 ^b	30.97±0.86 ^b	82.42±1.48 ^{cd}
聊城‘凤丹’	5.49±1.00 ^{cd}	1.40±0.09 ^b	14.79±0.86 ^b	26.42±1.89 ^b	35.62±1.29 ^a	83.72±1.14 ^{cd}
平均值	7.80	1.59	16.14	25.13	34.21	84.76
变异系数/%	33.85	15.90	9.67	11.00	9.15	7.83

注:采用Duncan’s multiple rang test方差分析,同一列不同字母表示差异显著($P<0.05, n=3$)。

依据不同地区‘凤丹’籽油的总离子流图,参照2.2节中得到的标准曲线,计算各‘凤丹’籽油中主要脂肪酸的含量,并做单因素方差分析。

2.3.1 主要脂肪酸总含量差异

结果表明,不同产地‘凤丹’籽油中均含有丰富的不饱和脂肪酸,依次为亚麻酸、亚油酸和油酸,同时也含有少量的饱和脂肪酸:棕榈酸和硬脂酸。不同地区的‘凤丹’籽油中5种主要脂肪酸的总含量存在显著差异:彬县‘凤丹’籽油中5种主要脂肪酸的总含量最高(97.38 g/100 g粗提油),而铜陵和旬邑‘凤丹’籽油中主要脂肪酸的总含量较低,分别为77.33 g/100 g和78.91 g/100 g粗提油,其他地区‘凤丹’籽油中主要脂肪酸的总含量在82.42~87.49 g/100 g粗提油之间,变异系数为7.83%。

2.3.2 亚麻酸含量差异

各地区‘凤丹’籽油中单体脂肪酸的含量存在显著差异。亚麻酸是牡丹籽油中最主要的组分,所测‘凤丹’籽油的平均含量为34.21 g/100 g粗提油。含量最高的为彬县‘凤丹’籽油(38.25 g/100 g粗提油),其他地区‘凤丹’籽油中亚麻酸含量的变化范围为30.76~37.50 g/100 g粗提油,变异系数为9.15%。

2.3.3 亚油酸含量差异

亚油酸是牡丹籽油中的主要不饱和脂肪酸,所测‘凤丹’籽油的平均含量为25.13 g/100 g粗提油。含量最高的为旬阳‘凤丹’籽油(30.62 g/100 g粗提油),其他地区‘凤丹’籽油中亚油酸含量的变化范围为22.75~26.42 g/100 g粗提油,变异系数为11.00%。

2.3.4 油酸含量差异

牡丹籽油中油酸含量略低于亚油酸的含量,所测‘凤丹’籽油的平均含量为16.14 g/100 g粗提油。洛阳‘凤丹’籽油中其含量最高(18.42 g/100 g粗提油),显著高于旬阳‘凤丹’(14.47 g/100 g粗提油)。各地区间籽油油酸含量变异系数为9.67%。

2.3.5 棕榈酸含量差异

棕榈酸是一种饱和脂肪酸,一般认为,油脂中其含量越少越有益于人体健康。牡丹籽油中其含量较低,所测‘凤丹’籽油的平均含量为7.80 g/100 g粗提油。含量最低的为铜陵‘凤丹’籽油(4.94 g/100 g粗提油),最高的为彬县‘凤丹’(17.12 g/100 g粗提油)。

2.3.6 硬脂酸含量差异

硬脂酸也是一种饱和脂肪酸,食用过多易引起心血管疾病。牡丹籽油中硬脂酸含量均较低,所测‘凤丹’籽油的平均含量为1.59 g/100 g粗提油,含量最低的为聊城‘凤丹’籽油(1.40 g/100 g粗提油),最高的为彬县‘凤丹’籽油(2.12 g/100 g粗提油)。

2.4 脂肪酸组成间的相关性

通过对7个地区的牡丹籽油脂肪酸成分进行分析,

牡丹籽油脂肪酸成分较稳定,基本由亚麻酸、亚油酸、油酸、硬脂酸和棕榈酸组成。通过相关性分析,各脂肪酸含量之间存在相关性。

表3 籽油脂肪酸间的相关性分析

	棕榈酸	硬脂酸	油酸	亚油酸	亚麻酸	总脂肪酸
棕榈酸	1.000	0.963**	0.538	-0.452	0.605	0.653
硬脂酸	0.963**	1.000	0.618	-0.436	0.693	0.900**
油酸	0.538	0.618	1.000	-0.574	0.132	0.802*
亚油酸	-0.452	-0.436	-0.574	1.000	-0.130	-0.066
亚麻酸	0.605	0.693	0.132	-0.130	1.000	0.834*
总脂肪酸	0.653	0.900**	0.802*	-0.066	0.834*	1.000

注:*.显著相关;**.极显著相关;-负相关。

由表3可知,牡丹籽油中棕榈酸含量与硬脂酸含量呈极显著相关,硬脂酸与总脂肪酸呈极显著相关,相关系数均达到0.900。油酸、亚麻酸与总脂肪酸含量呈显著相关,相关系数分别为0.802和0.834。亚油酸含量与其他4种脂肪酸含量呈负相关,但是由表2可知,亚油酸和油酸的含量之和较稳定,大约含量在40.00 g/100 g粗提油左右,这符合亚油酸和油酸相互转化的代谢过程^[12]。

3 讨论

实验测得牡丹籽油中主要脂肪酸的种类(相对含量 $\geq 1\%$)与前人测定结果一致^[10-11,13-14],包括亚麻酸、油酸、亚油酸、棕榈酸和硬脂酸,其占主要脂肪酸总含量分别为40.13%、29.61%、19.02%、9.19%、1.87%,这表明牡丹籽油脂肪酸组成丰富。已有研究表明,亚麻酸具有明显的降血压、抗动脉粥样硬化和益智等作用,被认为是评价植物油脂价值的重要指标。与其他植物油脂相比较,‘凤丹’籽油中亚麻酸含量丰富,其最高含量(38.25 g/100 g粗提油)高于市场上销售的成品茶油(2.16 g/100 g)、橄榄油(2.62 g/100 g)^[15-16]和沙棘籽油(23.22 g/100 g)^[17]的含量,因此,‘凤丹’籽油具有更高的营养价值。由表3可知,不饱和脂肪酸油酸、亚麻酸含量与总脂肪酸含量显著正相关,这说明提高籽油品质与产量正相关,进一步为优质油用牡丹的培育提供参考。

由表2可知,除彬县‘凤丹’籽油,其他地区‘凤丹’籽油中主要脂肪酸的总含量并不是很高,在77.33~87.49 g/100 g粗提油之间。其可能的原因,一方面牡丹籽和籽油干燥不完全,导致籽油中含有较多水分。同时,籽油中含有含量较低的其他脂肪酸成分,并且非脂肪酸成分(酚类、醇类、维生素类等)也占有一定比例。另一方面,由表2可知,海拔700~1 108 m的陕西彬县、旬阳和凤县的‘凤丹’籽的总脂肪酸含量较高,而海拔分别在50 m和250 m的聊城和洛阳的‘凤丹’籽的总脂肪酸含量较低,这与通常认为的随着海拔高度

的增加,光照强度增加,有利于提高果实的含油率相符^[18],种植地的地理环境和气候条件是否对牡丹籽油的脂肪酸含量有显著性影响^[19-20],有待于进一步研究证实。

实验结果证明,彬县‘凤丹’籽油中主要不饱和脂肪酸含量显著高于其他地区,但是其硬脂酸和棕榈酸的含量也很高。综合分析,即使旬阳‘凤丹’的总脂肪酸含量并不是最高,但其不饱和脂肪酸含量较高而饱和脂肪酸含量较低,因此,旬阳‘凤丹’籽油的品质优于其他地区。实验说明,不同产地的‘凤丹’籽油中主要脂肪酸的含量,存在较大差异,牡丹籽油可能具有道地性,实验进一步提出了牡丹品种的区域化问题。因此,在今后牡丹籽油的生产方面,要综合考虑不同地区之间的油品质差异性。

参考文献:

- [1] 洪德元,潘开玉.芍药属牡丹组的分类历史和分类处理[J].植物分类学报,1999,37(4):351-368.
- [2] 成仿云.中国紫斑牡丹[M].北京:中国林业出版社,2005:1-5.
- [3] 戴松成.国花牡丹档案[M].开封:河南大学出版社,2008:22-26.
- [4] 蓝保卿,李嘉珏,段全绪.中国牡丹全书[M].北京:中国科学技术出版社,2002:1-4.
- [5] 王汉中.我国食用油供给安全形势分析与对策建议[J].中国油料作物学报,2007,29(3):347-349.
- [6] 韩宏毅,王剑.多不饱和脂肪酸及其生理功能[J].中国临床研究,2010,23(6):523-525.
- [7] 刘立新. ω -3脂肪酸对高血压合并颈动脉粥样硬化患者血管内皮功能的影响[J].中国临床药理学杂志,2010,26(5):330-333.
- [8] 吴国豪.营养支持在炎症性肠疾病治疗中的价值[J].中国实用外科杂志,2007,27(3):197-199.
- [9] CLELAND L G, JAMES M J, PROUDMAN S M. The role of fish oils in the treatment of rheumatoid arthritis[J]. Drugs, 2003, 63(9): 845-853.
- [10] 周海梅,马锦琦,苗春雨,等.牡丹籽油的理化指标和脂肪酸成分分析[J].中国油脂,2009,34(7):72-74.
- [11] 邓瑞雪,刘振,秦琳琳,等.超临界CO₂流体提取洛阳牡丹籽油工艺研究[J].食品科学,2010,31(10):142-145.
- [12] FAZIO A, PLASTINA P, MEIJERINK J, et al. Comparative analyses of seeds of wild fruits of *Rubus* and *Sambucus* species from Southern Italy: fatty acid composition of the oil, total phenolic content, antioxidant and anti-inflammatory properties of the methanolic extracts[J]. Food Chemistry, 2013, 140(4): 817-824.
- [13] 王昌涛,张萍,董银卯.超临界CO₂提取牡丹籽油的工艺以及成分分析[J].中国粮油学报,2009,24(8):96-99.
- [14] 史国安,郭香凤,金宝磊,等.牡丹籽油超临界CO₂萃取工艺优化及抗氧化活性的研究[J].中国粮油学报,2013,28(4):47-50.
- [15] 郑玉梅,杨月欣,王竹,等.食用植物油中脂肪酸定量分析的气相色谱内标法研究[C]//第十六届全国卫生检验新技术学术研讨会暨展览会会刊,2008:34-35.
- [16] 龙正海,王道平.油茶籽油与橄榄油化学成分研究[J].中国粮油学报,2008,23(2):121-123.
- [17] 张凤彬,索有瑞,王洪伦,等.毛细管气相色谱内标法测定沙棘油中的脂肪酸[J].中国粮油学报,2008,23(1):198-202.
- [18] DARWISH M S A. Essential oil variation and trace metals content in garden sage (*Salvia officinalis* L.) grown at different environmental conditions[J]. Journal of Agricultural Science, 2014, 6(3): 209.
- [19] GARCIA-INZA G P, CASTRO D N, HALL A J, et al. Responses to temperature of fruit dry weight, oil concentration, and oil fatty acid composition in olive (*Olea europaea* L. var. ‘Arauco’)[J]. European Journal of Agronomy, 2014, 54: 107-115.
- [20] RONDANINI D P, CASTRO D N, SEARLES P S, et al. Fatty acid profiles of varietal virgin olive oils (*Olea europaea* L.) from mature orchards in warm arid valleys of Northwestern Argentina (La Rioja)[J]. Grasas Y Aceites, 2011, 62(4): 399-409.